

## ELEVATION DU TAUX D'HEME OXYGYNASE AVEC DES DERIVES DE LA RHEINE

La présente invention concerne le traitement en thérapeutique humaine ou animale des affections nécessitant une élévation du taux de l'enzyme hème oxygénase, par administration d'une dose efficace de rhéine ou de diacerhéine ou d'un de leurs sels ou esters, ainsi que l'utilisation de la rhéine ou de la diacerhéine ou d'un de leurs sels ou esters pour la fabrication d'un médicament pour le traitement des affections nécessitant une élévation du taux de l'enzyme hème oxygénase, en agissant sur les causes de certaines conditions aiguës et chroniques, en assurant la prévention et l'inhibition des effets du stress sur les cellules et les tissus, et en assurant la prévention et le traitement du rejet des transplantations d'organes et de tissus.

La réaction du système immunitaire est un mécanisme physiopathologique de réponse à plusieurs types et formes d'agression qui ont pour objet l'organisme ("stress"). Cette réaction peut être responsable de plusieurs formes pathologiques importantes, référencées par exemple dans Harrison's Principles of Internal Medicine, 14ème édition (1998), 749-754. Un grand nombre d'études ont été consacrées aux médiateurs responsables du déclenchement de la réaction des éléments du système immunitaire, et au contrôle pharmacologique et thérapeutique de cette réaction dans ses phases initiales. Ces études ont permis de produire et mettre sur le marché des médicaments efficaces, par exemple dans le traitement de l'inflammation aiguë.

Dans des conditions normales, les mécanismes de protection et de réponse de l'organisme au stress (chimique, thermique, mécanique, infectieux, etc.) peuvent maîtriser les causes qui sont à la base de la réaction, et arrêter le processus. En effet, les chercheurs ont souvent constaté que la réaction des éléments du système immunitaire, après une

première phase aiguë, pouvait s'atténuer ensuite dans une deuxième phase. Cependant, peu d'études ont abordé la question de l'évolution bénigne spontanée de cette réaction, et de son contrôle pharmacologique et thérapeutique.

5 En raison de la persistance des causes, et/ou de l'inefficacité du traitement, la réaction des éléments du système immunitaire au stress peut devenir chronique. Le passage à la chronicité est fréquent, peut se présenter sous plusieurs aspects pathologiques importants, référencés notamment dans  
10 Tarkowski A. et al. Mol. Med. Today (1988) 4:15-18 ; et Levy B.D. et al., Nature Immunol. (2001) 2:612-619. La problématique liée à ce passage à la chronicité a suscité de nombreux travaux de recherche. Cependant, il n'existe aujourd'hui que peu de traitements satisfaisants. De plus, même à  
15 faibles doses ces traitements sont souvent mal tolérés par les patients et peuvent provoquer des effets indésirables graves.

Des travaux ont montré l'influence de certains facteurs endogènes dans l'évolution bénigne spontanée de la réaction des éléments du système immunitaire. Ainsi, D. Willis et al.  
20 (Nature Medicine (1996) 2: pp. 87-90) ont montré qu'une enzyme, la hème oxygénase-1 (HO-1), est exprimée progressivement dans les phases plus avancées de la réaction inflammatoire aiguë, et précède la phase de résolution de cette réaction. Ainsi, un modèle cohérent des événements principaux  
25 survenant au cours de cette réaction est illustré sur la Figure 1 (modèle de pleurite induite après injection de carragénine chez le rat), dans laquelle "HO-1", représente le taux de l'hème oxygénase-1, "iNOS", la nitric-oxyde synthétase inductible, et "PGE<sub>2</sub>", la prostaglandine E<sub>2</sub>. On observe que le  
30 taux de l'hème oxygénase croît progressivement avec le temps, et précède la diminution de la réaction des éléments du système immunitaire.

L'enzyme hème oxygénase appartient aux "heat-shock proteins" (HSP): elle est connue également sous le nom de  
35 "heat-shock protein 32K" (HSP32) (voir Keyse S.M. et al., Proc.

Natl. Acad. Sci. USA (1991) 86:99-103). Les HSP forment une famille de protéines dont l'expression est stimulée par le stress (chaleur, hypoxie, oxydation, intoxication par des métaux, etc.), comme vérifié dans des expérimentations  
5 réalisées par la demanderesse *in vitro* sur des cultures de macrophages de souris, de chondrocytes humains, et de cartilage isolé de la tête fémorale de rat. La Figure 2 montre les résultats d'un "Western blot" (une méthode sensible de mesure du taux des protéines d'intérêt) qui analyse l'expression de  
10 HSP32 (HO-1) et HSP70 après choc thermique (1 heure à 43°C) dans le modèle du cartilage de tête fémorale de rat (Cont. = contrôle).

Les HSP jouent un rôle très important dans les mécanismes de défense et réparation cellulaire face aux stress. En  
15 particulier, la HO-1 exerce un effet modulateur très important au cours de la réponse inflammatoire : une élévation du taux de l'enzyme s'accompagne d'une suppression de l'inflammation, tandis qu'une inhibition entraîne une augmentation de la réponse inflammatoire (Nature Medicine (1996) 2:87-90).

20 La découverte de la HO-1 et l'appréciation de ses effets ont suggéré la possibilité d'un contrôle pharmacologique et thérapeutique de la réponse cellulaire au stress ; en effet, il serait avantageux de pouvoir disposer de médicaments susceptibles de favoriser et/ou de maintenir l'élévation du  
25 taux de l'enzyme HO-1, à utiliser au cours du traitement de plusieurs conditions qui induisent un stress cellulaire et tissulaire, telles qu'observé notamment chez les patients immunosupprimés.

De plus, les mécanismes cellulaires responsables de la  
30 réponse au stress interviennent également lors des phénomènes observés en réponse au transplant d'un tissu ou organe (Harrison's Principles of Internal Medicine, 14ème édition (1998), 1760-68). Donc, il serait aussi avantageux de disposer de médicaments susceptibles de favoriser l'élévation du taux  
35 de l'enzyme HO-1 pour protéger l'organisme contre la

dégradation du greffon observée lors de la transplantation de tissus et organes, et utiles pour la prévention et traitement des rejets de transplants.

Les rhéines et certains de leurs dérivés, y compris la diacerhéine, ont été utilisés en médecine humaine et vétérinaire comme principes actifs de médicaments. Des procédés de préparation ont été mis au point pour obtenir avec un bon rendement de la diacerhéine de pureté compatible avec l'utilisation dans le domaine pharmaceutique, présentant une très faible teneur en aloémodine et autres impuretés indésirables.

En médecine humaine, la diacerhéine a été administrée à des patients souffrant d'arthrose, qui présentent des douleurs et des difficultés à se déplacer. Par ailleurs, le traitement par la diacerhéine permet de ralentir la progression de la maladie arthrosique, avec une bonne sécurité d'emploi. Cependant, la diacerhéine ainsi que la rhéine ont une activité symptomatique anti-inflammatoire et antalgique modérée dans la phase aiguë de l'arthrose (Nguyen et al., Arthritis and Rheumatism (1994) 37:529-536).

Or, les travaux et expérimentations réalisés par la demanderesse, visant à éclaircir le mécanisme d'action de la diacerhéine et de la rhéine, ont montré de manière tout à fait inattendue que la rhéine, la diacerhéine, et leurs sels ou esters ont pour effet de promouvoir significativement la formation de la HO-1, et de favoriser les mécanismes de contrôle de la réponse cellulaire et tissulaire face au stress. On a ainsi pu démontrer que l'administration de rhéine, ou de diacerhéine, ou de leurs sels ou esters, a pour effet de protéger l'organisme contre les événements délétères liés au stress.

De plus, l'administration de rhéine, ou de diacerhéine, ou de leurs sels ou esters, a aussi pour effet de protéger l'organisme contre la dégradation d'organes et tissus, et notamment le cartilage, de la part des cellules du système immunitaire, et de contrôler les phénomènes qui interviennent

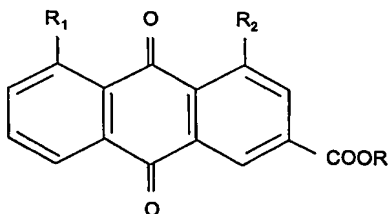
en réponse aux transplantations d'organes et de tissus, ce qui permet d'envisager leur utilisation dans la prévention et le traitement des rejets de greffes d'organes et de tissus.

La présente invention a donc pour objet l'utilisation de la diacerhéine, et plus généralement de la rhéine et des dérivés de rhéine, en thérapeutique humaine et vétérinaire dans le traitement des affections nécessitant un taux élevé de l'enzyme hème oxygénase, dans la prévention et l'inhibition des effets du stress sur les cellules et les tissus, et pour la prévention et le traitement des rejets de greffes d'organes et tissus.

L'invention a aussi pour objet l'utilisation de la rhéine et des dérivés de la rhéine, en particulier la diacerhéine, pour la fabrication d'un médicament pour le traitement d'une condition nécessitant un taux élevé d'hème oxygénase.

La rhéine et la diacerhéine, ainsi que leurs sels et esters, s'avèrent ainsi particulièrement avantageux pour favoriser ou maintenir un taux élevé d'hème oxygénase, dans la prévention et l'inhibition des effets du stress sur les cellules et les tissus, et dans la prévention et le traitement des rejets des greffes d'organes et de tissus chez un sujet nécessitant un tel traitement.

La rhéine et ses dérivés utilisables dans l'invention, notamment la diacerhéine, peuvent être représentés par la formule générale (I) suivante :



dans laquelle R représente un atome d'hydrogène, ou un groupe alkyle, par exemple un groupe méthyle, éthyle ou propyle, ou un atome de métal alcalin ou alcalino-terreux, par exemple un atome de sodium, de potassium ou de calcium, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>,

identiques ou différents, représentent un groupe hydroxy ou un groupe acyloxy de formule  $R'-COO-$  dans laquelle  $R'$  est un groupe alkyle de 1 à 4 atomes de carbone, par exemple un groupe méthyle, éthyle ou isopropyle.

5 Dans la formule générale (I) ci-dessus,  $R$  représente de préférence un atome d'hydrogène, et  $R_1$  et  $R_2$  représentent de préférence un groupe hydroxy ou acétoxy. La formule générale (I) ci-dessus dans laquelle  $R$  est un atome d'hydrogène et  $R_1$  et  $R_2$  sont un groupe acétoxy  $-COOCH_3$  est celle de la  
10 diacerhéine.

La diacerhéine et la rhéine peuvent être préparées par les méthodes connues de la technique, et par exemple à partir de produits d'extraction d'aloès ou de feuille de sénégale, tels que des sennosides, ou par acétylation de barbaloiné suivie  
15 d'une oxydation par l'oxyde de chrome. On peut aussi utiliser les procédés de synthèse décrits dans les brevets EP 801639 et EP 909268. Ces procédés consistent, par exemple, à effectuer une réaction de Diels-Alder sur une naphthoquinone telle que la juglone au moyen d'un diène acyclique pour obtenir une  
20 tétrahydroanthraquinone qui peut être aisément transformée en rhéine et diacerhéine après déprotection oxydante.

La diacerhéine obtenue par ces procédés peut être purifiée si nécessaire pour parvenir à un produit répondant parfaitement aux normes pharmaceutiques et offrant toutes les  
25 garanties voulues. Par exemple, on peut utiliser le procédé de purification décrit dans le brevet EP 754173, suivant lequel on prépare un sel soluble de diacerhéine par action de triéthylamine et d'acétate de potassium, puis on effectue une hydrolyse en milieu faiblement acide.

30 Les études effectuées par la demanderesse pour mettre en évidence l'effet de la diacerhéine, de la rhéine et de leurs sels ou esters sur la HO-1 ont été réalisées en utilisant des modèles validés, comme indiqué ci-après.

Les travaux et expérimentations in vitro ont utilisé les  
35 modèles suivants:

1.- Un modèle validé de culture de tissu, et notamment le cartilage de tête fémorale de rat, traité avec érythrocytes (en % w/v), lysat d'érythrocytes ( $3 \times 10^6$ ), ou hémoglobine (en % w/v), sans et après stress thermique (1h à 43°C). L'intégrité du cartilage a été mesurée par l'incorporation de sulfate radioactif ( $^{35}\text{SO}_4$ ; en coups per minutes, CPM). Dans ce modèle, les érythrocytes, le lysat d'érythrocytes et l'hémoglobine provoquent la destruction cellulaire, démontrée par une diminution de la viabilité cellulaire et de l'incorporation de sulfate radioactif par les cellules, comme le montrent les Figures 3 et 4.

La Figure 3 montre que les érythrocytes provoquent une destruction cellulaire en fonction de leur dose, mise en évidence par la diminution de l'incorporation cellulaire de sulfate radioactif (modèle: cartilage de tête fémorale de rat avec érythrocytes en %v/v; Cont. = contrôle: solution sans érythrocytes;  $^{35}\text{SO}_4$  = sulfate radioactif; sem = erreur standard).

De la même manière, la Figure 4 montre que l'hémoglobine provoque une destruction cellulaire en fonction de sa dose, mise en évidence par la diminution de l'incorporation cellulaire de sulfate radioactif (modèle: cartilage de tête fémorale de rat avec hémoglobine en %v/v; Cont. = contrôle: solution sans hémoglobine;  $^{35}\text{SO}_4$  = sulfate radioactif; sem = erreur standard).

Dans ce modèle de culture de tissu, les HSP préalablement induites par le stress préviennent la destruction cellulaire, comme démontré sur la Figure 5 par une augmentation de l'incorporation de sulfate radioactif par les cellules (modèle: cartilage de tête fémorale de rat soumis à stress thermique (1h à 43°C) et ensuite traité avec hémoglobine (1%w/v);  $^{35}\text{SO}_4$  = sulfate radioactif; sem = erreur standard).

2.- Un modèle validé de culture de cellules, et notamment les chondrocytes humains, traités avec érythrocytes (en % w/v), lysat d'érythrocytes ( $3 \times 10^6$ ), ou hémoglobine (en % w/v), sans

et après stress thermique (1h à 43°C). L'intégrité cellulaire a été mesurée par la viabilité cellulaire (cellules vivantes par rapport au contrôle), la présence d'apoptose (fragmentation nucléaire; en nombre et pourcentage par rapport au contrôle), et l'incorporation de sulfate radioactif ( $^{35}\text{SO}_4$ ; en coups per minutes, CPM).

Comme déjà observé pour le cartilage de tête fémorale, dans ce modèle aussi les érythrocytes, le lysat d'érythrocytes ou l'hémoglobine provoquent la destruction cellulaire. Par contre, les HSP induites par un stress préviennent cette destruction cellulaire et préservent les cellules, comme le montre la Figure 6 qui dénombre les cellules vivantes (modèle: chondrocytes humains soumis à stress thermique (1h à 43°C) et ensuite traité avec lysat d'érythrocytes ( $3 \times 10^6$ ); sem = erreur standard).

Sur la base de ces expériences, les études effectuées par la demanderesse ont mis en évidence les effets de la diacérhéine, de la rhéine et de leurs sels ou esters sur l'expression de la HO-1, comme illustré en détail ci-après en référence aux Figures 7a, 7b et 7c.

La Figure 7a est un "Western blot" (modèle: cartilage de tête fémorale de rat; Cont. = contrôle; Veh. = solution témoin; diacérhéine: 10 $\mu\text{M}$  et 100 $\mu\text{M}$ ) qui montre que la diacérhéine, par comparaison avec le contrôle et la solution témoin, entraîne une augmentation de l'expression de la HO-1 en fonction de la dose.

Les Figures 7b et 7c sont également des "Western blot" de cellules (modèle: macrophages de souris) cultivées sans et avec diacérhéine (Figure 7b: colonnes "C" et colonnes "DC", respectivement) ou rhéine (Figure 7c) à une concentration de  $10^{-5}$  M, et ensuite analysées à 15, 30 et 60 minutes (Figure 7b) et 0, 15, 30, 60, 120 minutes ainsi que 18 heures (Figure 7c). L'identité de la protéine d'intérêt, la HO-1, a été confirmée par rapport à son poids moléculaire (32 kilodalton; kDa) déterminé sur une échelle de référence (première colonne



à gauche dans les Figures). Ces résultats démontrent que la diacerhéine et la rhéine entraînent une augmentation de l'expression de la HO-1 en fonction du temps.

En utilisant les modèles in vitro décrits ci-dessus, les études effectuées par la demanderesse ont aussi démontré que la diacerhéine, la rhéine et leurs sels ou esters, en raison de leur effet sur la HO-1, préservent l'intégrité cellulaire, comme illustré en détail sur les Figures 8 et 9.

La Figure 8 (modèle: chondrocytes humains; lysat = produit de la lyse de  $3 \times 10^6$  érythrocytes; diacerhéine: 100 $\mu$ M; sem = erreur standard) montre que le traitement par la diacerhéine prévient la destruction cellulaire provoquée par le lysat d'érythrocytes.

La Figure 9 (modèle: chondrocytes humains; lysat = produit de la lyse de  $3 \times 10^6$  érythrocytes; rhéine: 100 $\mu$ M; sem = erreur standard) montre que le traitement par la rhéine prévient l'apoptose provoquée par le lysat d'érythrocytes.

Les conclusions principales des travaux et expérimentations réalisés par la demanderesse in vitro avec les modèles décrits ci-dessus, sur les effets de la diacerhéine, de la rhéine et de leurs sels ou esters, sont les suivantes:

- La diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters augmentent de façon dose - dépendante les niveaux de l'enzyme HO-1 qui joue un rôle dans la protection de l'intégrité cellulaire;

- Grâce à cette augmentation de la HO-1, la diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters préservent l'intégrité des cellules et des tissus face aux réactions délétères induites par le stress;

- La diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters préviennent l'apoptose (fragmentation du noyau, suivi par la destruction et la mort des cellules).

La demanderesse a également réalisés des travaux et expérimentations in vivo, avec l'utilisation du modèle décrit ci-après.

On a mesuré l'effet de la diacerhéine, de la rhéine et de leurs sels ou esters sur l'intensité de la réaction tissulaire et des phénomènes de destruction et rejet à la suite de l'implantation d'un tissu, en utilisant le modèle du granulome et dégradation de tissu de rat induites chez la souris (Bottomley KM et al., Osteoarthritis and Cartilage (1998) 6: 19-23.).

La méthode comprend les étapes suivantes :

- les tissus isolés (rat Wistar, mâle) sont placés dans du coton stérile et implantés en sous-cutané chez des souris TO;
- les implants sous-cutanés sont conservés sur une période de 2 semaines;
- traitement quotidien des animaux avec diacerhéine, rhéine et leurs sels ou esters, ainsi qu'avec les contrôles et comparateurs, aux doses optimales indiquées;
- récupération du tissu implanté et du granulome réactif;
- mesure du degré de la réponse inflammatoire tissulaire (évaluation des dimensions du granulome, du nombre de cellules inflammatoires dans l'exsudat, et du volume de l'exsudat), et du rejet (évaluation de la dégradation du tissu implanté).

En utilisant le modèle décrit ci-dessus, les études effectuées par la demanderesse ont démontré que la diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters diminuent la réaction tissulaire (formation du granulome, recrutement de cellules inflammatoires, formation d'un exsudat) provoquée par la transplantation de tissu de rat chez la souris, et préservent l'intégrité du tissu transplanté, comme illustré en détail sur les Figures 10, 11 et 12 ci-après.

La Figure 10 montre que le traitement avec la diacerhéine diminue la réaction tissulaire (formation du granulome réactif) en fonction de la dose (diacerhéine: 5, 15 et 50 mg/kg, par voie orale; \*\* différence statistiquement significative par rapport au contrôle :  $p < 0,01$ ).

La Figure 11 montre que la réaction tissulaire provoquée par l'implantation de tissu de rat chez la souris est diminuée par le traitement avec la diacerhéine en fonction de la dose

(à gauche sur la Figure 11: nombre de cellules inflammatoires ; à droite : volume de l'exsudat) (Cont.: contrôle; diacerhéine : 5, 15 et 50 mg/kg, par voie orale; \* différence statistiquement significative par rapport au contrôle :  
5 p<0,05).

La Figure 12 montre que le traitement avec la diacerhéine préserve l'intégrité du tissu transplanté en fonction de la dose de diacerhéine, ce qui est mis en évidence par la conservation de la teneur en collagène (à gauche sur la Figure  
10 12) et en glycosamino-glycane (GAG; à droite) dans le tissu transplanté (diacerhéine: 5, 15 et 50 mg/kg, par voie orale; différences statistiquement significatives versus contrôle : \* p<0,05: \*\* p<0,01).

Les conclusions principales des travaux et expérimentations sur les effets de la diacerhéine, de la rhéine, et de leurs sels ou esters réalisés in vivo par la demanderesse avec le modèle décrit ci-dessus sont les suivantes:

- la diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters diminuent la réaction tissulaire (dimensions du granulome, nombre de cellules inflammatoires, volume de l'exsudat) provoquée par l'implantation du tissu de rat dans la souris ;

- la diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters préservent l'intégrité des tissus transplantés face à la réaction tissulaire ;

25 - la diacerhéine, la rhéine, et leurs sels ou esters préviennent la destruction et le rejet du tissu transplanté.

Pour le traitement des phénomènes inflammatoires aigus, les médicaments le plus largement utilisés sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), même s'ils présentent  
30 certains effets indésirables, et en particulier une tendance à induire des ulcérations gastriques ou intestinales (Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics; 9ème édition, McGraw Hill). Ces effets indésirables sont liés à l'inhibition de l'enzyme cyclo-oxygénase-1 (COX-1; isoforme  
35 constitutive).

La découverte de l'existence d'une autre isoforme de l'enzyme cyclo-oxygénase, la cyclo-oxygénase-2 (COX-2; isoforme induite dans l'établissement de l'inflammation), a ouvert de nouvelles perspectives vers la mise au point de médicaments potentiellement plus spécifiques et plus sûrs. Les AINS disponibles aujourd'hui ont pour effet d'inhiber sélectivement l'action de la COX-2, et donc d'agir sur l'inflammation avec une incidence plus faible d'effets secondaires indésirables sur le tractus gastro-intestinal supérieur. Ainsi, une nouvelle classe de médicaments, les inhibiteurs de la COX-2 tels que le celecoxib et le rofecoxib, a été développée pour le traitement symptomatique des maladies inflammatoires.

Cependant, à ce jour aucun effet favorable sur l'enzyme hème oxygénase n'a été observé ni pour les AINS "classiques" ni pour les inhibiteurs de la COX-2.

Les études réalisées par la demanderesse ont confirmé que les AINS classiques ainsi que les inhibiteurs de la COX-2 diminuent la réaction tissulaire (granulome, infiltration de cellules inflammatoires, exsudat) provoquée par la transplantation de tissu de rat chez la souris. Par contre, ni les AINS classiques, ni les inhibiteurs de la COX-2, ne préservent l'intégrité du tissu transplanté, contrairement à la rhéine et la diacerhéine, comme les montrent les Figures 13, 14 et 15 ci-jointes.

La Figure 13 montre la comparaison des effets du traitement avec un inhibiteur de la COX-2 (le rofecoxib) d'une part, et la diacerhéine d'autre part, sur la diminution de la réaction tissulaire (formation d'un granulome réactif) provoquée par l'implantation de tissu de rat chez la souris (diacerhéine: 5, 15 et 50 mg/Kg, et rofecoxib: 3 mg/kg, par voie orale; différences statistiquement significatives par rapport au contrôle: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ).

La Figure 14 permet de comparer les effets du traitement avec le rofecoxib d'une part, la diacerhéine d'autre part, sur la diminution de la réaction tissulaire provoquée par

l'implantation de tissu de rat chez la souris. Le graphique de gauche illustre l'infiltration cellulaire, et celui de droite le volume de l'exsudat (Cont.: contrôle; DAR : diacerhéine: 2, 10 et 50 mg/kg, et rofecoxib: 3 mg/Kg, par voie orale; 5 différence statistiquement significative par rapport au contrôle: \*  $p < 0,05$ ).

La Figure 15 permet de comparer les différences des effets du traitement avec le rofecoxib d'une part, la diacerhéine d'autre part, sur la préservation de l'intégrité du 10 tissu transplanté. Le graphique de gauche correspond à la teneur en collagène, celui de droit à la teneur en glycosamino-glycane (GAG) dans le tissu (diacerhéine: 5, 15 et 50 mg/Kg, et rofecoxib: 3 mg/Kg, par voie orale; différences statistiquement significatives versus contrôle: \* $p < 0,05$ : 15 \*\* $p < 0,01$ ).

Les résultats obtenus montrent que la diacerhéine et la rhéine ont des propriétés significativement différentes de celles d'autres médicaments, tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) classiques et les inhibiteurs de la 20 COX-2, notamment sur la préservation d'un tissu transplanté et le rejet de ce tissu.

Conformément à la présente invention, il peut être utile d'associer la diacerhéine, ou la rhéine, ou leurs sels et esters, à un AINS classique ou à un inhibiteur de la COX-2, 25 dont les actions peuvent être complémentaires, selon la pathologie traitée. Ainsi la diacerhéine peut être associée à un AINS tel que le diclofenac à une dose comprise entre 25 et 150 mg par jour, ou à un inhibiteur de la COX-2 comme le rofecoxib à une dose comprise entre 10 et 50 mg par jour.

30 Comme indiqué précédemment, la diacerhéine, la rhéine, ainsi que leurs sels et esters, peuvent être avantageusement utilisés en thérapeutique humaine et vétérinaire pour le traitement des affections nécessitant un taux élevé de l'enzyme hème oxygénase, dans la prévention et l'inhibition 35 des effets du stress sur les cellules et les tissus, et pour

la prévention et le traitement du rejet des transplantations de tissus et d'organes. A titre d'exemple, leur utilisation aux doses indiquées est tout particulièrement utile pour le traitement des affections indiquées ci-après.

- 5       - les inflammations associées au diabète Type I et II, telles que neuropathie périphérique et ulcère chronique cutané
  - la dégénérescence maculaire
  - la rétinite,
  - l'uvéite intermédiaire ou postérieure non infectieuse
- 10       - le glaucome
- les "connectivites" (comme le lupus érythémateux, la sclérodermie, la sarcoïdose)
  - l'érythème noueux et la dermite atopique de l'adulte, en cas d'inefficacité, intolérance ou contre-indication des
  - 15       traitements classiques (photothérapie et/ou photochimiothérapie)
    - la myasténie et la mucoviscidose
    - la sinusite chronique, la bronchite chronique obstructive, les bronchiéctasies
  - 20       - la tuberculose (avec ses localisations pulmonaire, rénale, osseuse) et la prévention de la formation du granulome (comme dans les parasitoses, la leishmaniose, la pneumoconiose)
    - l'hépatite chronique (d'origine virale, alcoolique), la
    - 25       pancréatite chronique
    - la glomérulonéphrite, le syndrome néphrotique et la toxémie ("urémie") du patient en dialyse rénale
    - les infections opportunistes de patients immunosupprimés et "grands brûlés", l'ostéomyélite
  - 30       - les anémies hémolytiques, la drépanocytose, l'hémarthrose
    - le développement de la plaque athéromateuse, l'ictus hémorragique, la thrombophlébite
    - l'aplasie médullaire acquise (même si bénéficiant d'une
    - 35       greffe de moelle osseuse allogénique)

- la prévention du rejet d'un tissu (cartilage, peau, moelle osseuse) ou organe (foie, rein, cœur) transplanté

- la prévention du rejet du greffon, et du rejet après greffe, y compris à la phase initiale de transplantation  
5 hépatique, ainsi que le traitement préventif ou curatif de la maladie du greffon contre l'hôte

- le traitement du rejet, notamment chez des patients initialement traités par des protocoles immunosuppresseurs.

La diacerhéine et la rhéine possèdent une faible solubilité dans l'eau et dans les alcools, et sont donc de  
10 préférence administrées par voie orale. Les formes d'administration par voie orale usuelles dans le domaine pharmaceutiques sont adéquates, et par exemple, on peut administrer le médicament sous forme de comprimés, de gélules ou de capsules  
15 molles de gélatine, ou toute autre forme galénique appropriée.

Une forme d'administration particulièrement appropriée est celle décrite dans le brevet EP 862423 décrivant des capsules ou gélules dans lesquelles la diacerhéine est mélangée à une huile liquide et un surfactif non ionique,  
20 permettant d'obtenir une bonne biodisponibilité. Une autre forme utilisable dans l'invention, décrite dans le brevet US 6124358, est préparée par comicronisation de la rhéine ou de la diacerhéine avec un lauryl sulfate, par exemple le lauryl sulfate de sodium.

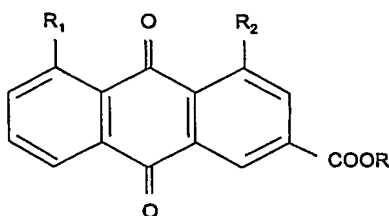
25 La posologie est déterminée par le praticien en fonction de l'état du patient, mais elle est généralement comprise entre 25 mg et 500 mg par jour, de préférence entre 50 mg et 100 mg par jour. Elle est relativement indépendante du poids du patient, chez l'adulte. Les doses unitaires, pour administration par voie orale, sont généralement comprises entre  
30 25 mg et 50 mg.

## REVENDICATIONS

1. Utilisation de la rhéine et de dérivés de rhéine en thérapeutique humaine ou vétérinaire pour le traitement d'une affection nécessitant une élévation du taux de l'enzyme hème oxygénase.

5 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la rhéine et le dérivé de rhéine sont représentés par la formule générale (I) :

10



dans laquelle R représente un atome d'hydrogène, ou un groupe alkyle, ou un atome de métal alcalin ou alcalino-terreux, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>, identiques ou différents, représentent un groupe hydroxy ou un groupe acyloxy de formule R'-COO- dans laquelle R' est un groupe alkyle de 1 à 4 atomes de carbone.

3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que le dérivé est la rhéine ou la diacerhéine.

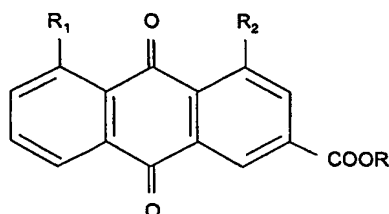
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le dérivé de rhéine est administré à raison de 25 à 500 mg par jour.

5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le dérivé de rhéine est sous forme administrable par voie orale.

6. Utilisation de la rhéine et de dérivés de rhéine pour la fabrication d'un médicament pour le traitement d'une affection nécessitant une élévation du taux de l'enzyme hème oxygénase.

7. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que la rhéine et le dérivé de rhéine sont représentés par la formule générale (I) :





5  
10 dans laquelle R représente un atome d'hydrogène, ou un groupe alkyle, ou un atome de métal alcalin ou alcalino-terreux, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>, identiques ou différents, représentent un groupe hydroxy ou un groupe acyloxy de formule R'-COO- dans laquelle R' est un groupe alkyle de 1 à 4 atomes de carbone.

15 8. Utilisation selon la revendication 7, caractérisée en ce que le dérivé est la rhéine ou la diacerhéine.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisée en ce que le dérivé de rhéine est administré à raison de 25 à 500 mg par jour.

20 10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 6 à 9, caractérisée en ce que le dérivé de rhéine est sous forme administrable par voie orale.

11. Utilisation selon la revendication 10, caractérisée en ce que la dose unitaire est comprise entre 25 mg et 50 mg.

25 12. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 6 à 11, caractérisée en ce que le dérivé de rhéine est associé à un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) ou à un inhibiteur de COX-2.

30 13. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 6 à 12, caractérisée en ce que le traitement est destiné à soigner ou prévenir les rejets de transplants.

35 14. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 6 à 12, caractérisée en ce que le traitement est destiné à la prévention et à l'inhibition des effets du stress sur les cellules et les tissus.

1 / 9

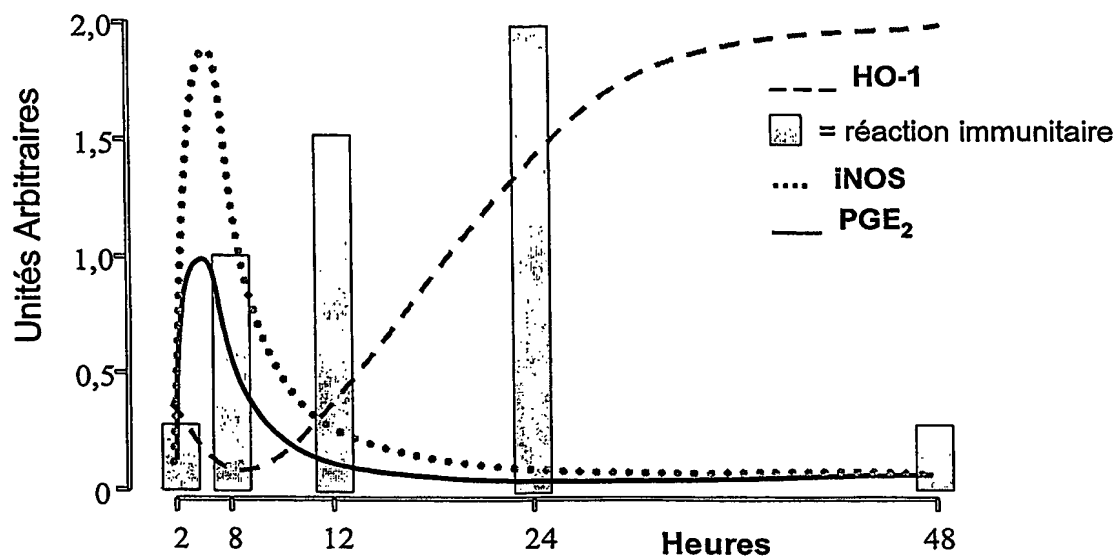


Figure 1

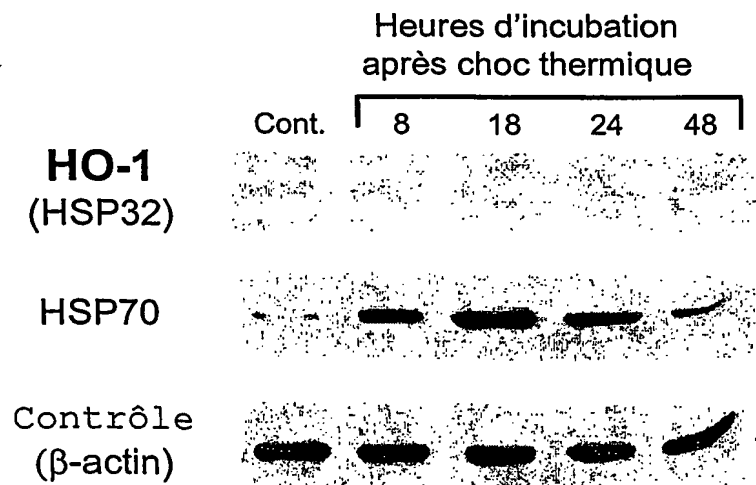


Figure 2

2 / 9

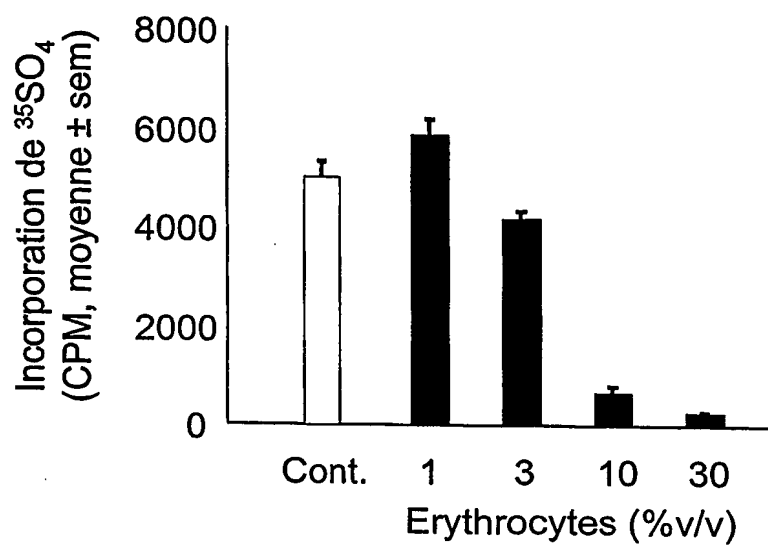


Figure 3

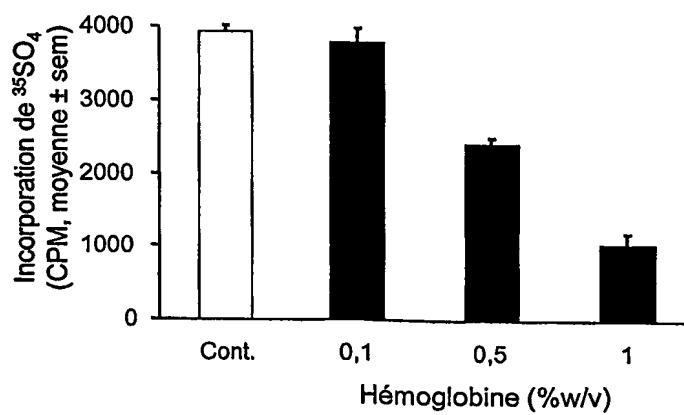


Figure 4

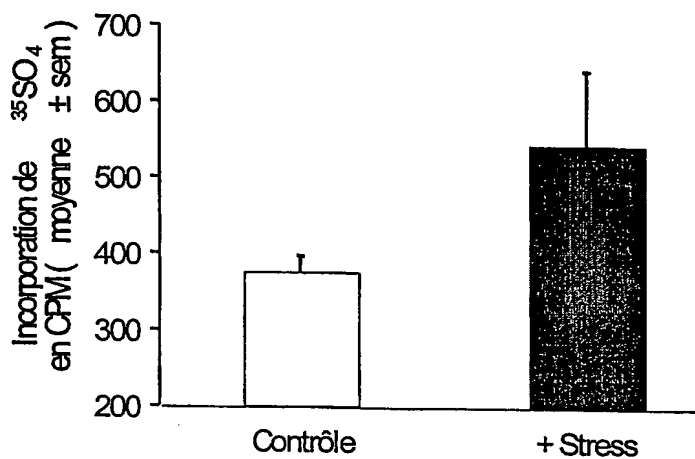


Figure 5

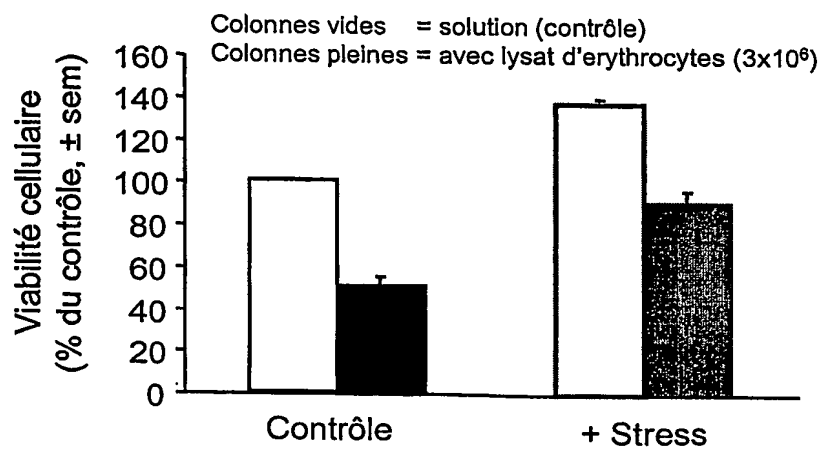


Figure 6

4 / 9

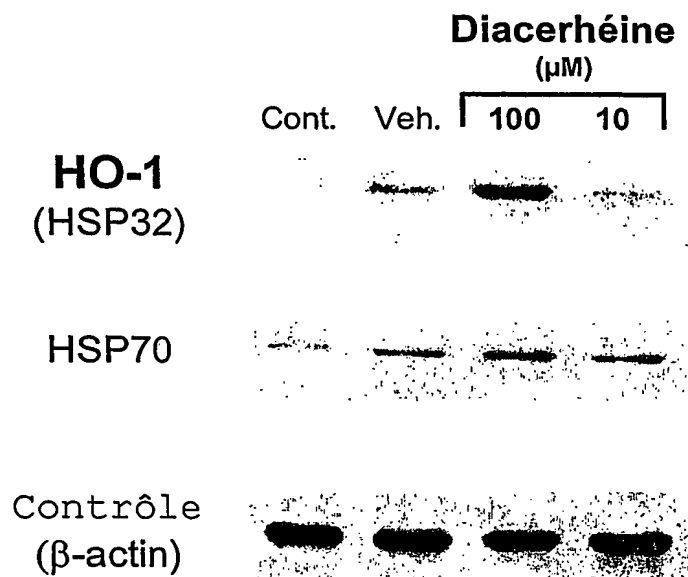


Figure 7a

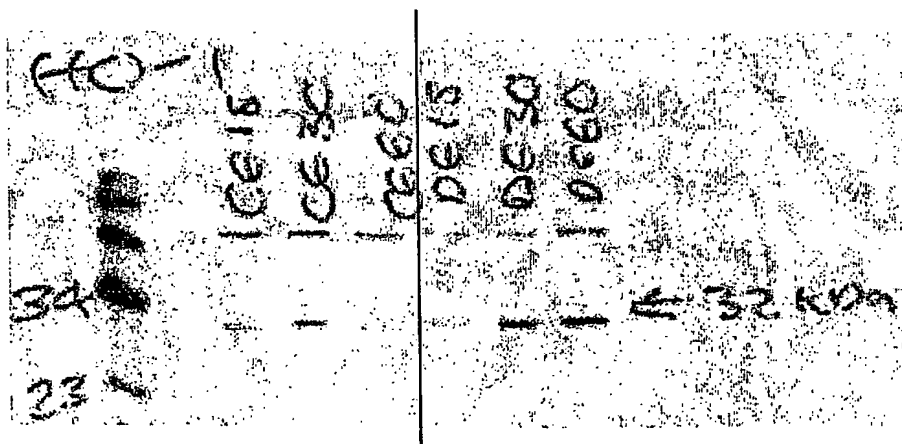


Figure 7b

Bar chart showing cell viability (density optical,  $\pm$  sem) for five conditions. The y-axis ranges from 0,3 to 1,0. The x-axis categories are: Contrôle, Solution témoin, Diacérhéine (100 $\mu$ M), Lysat (3 $\times 10^6$ ), and Lysat + Diacérhéine (100 $\mu$ M).

Condition	Viabilité cellulaire (densité optique, $\pm$ sem)
Contrôle	~0,52
Solution témoin	~0,53
Diacérhéine (100 $\mu$ M)	~0,77
Lysat (3 $\times 10^6$ )	~0,44
Lysat + Diacérhéine (100 $\mu$ M)	~0,75

Figure 8

6 / 9

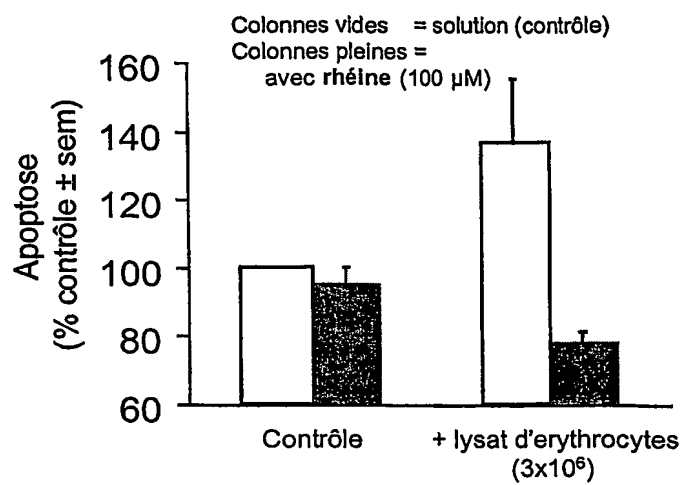


Figure 9

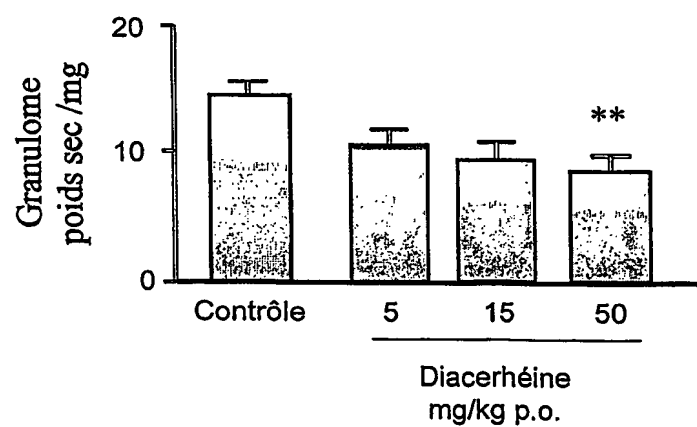


Figure 10

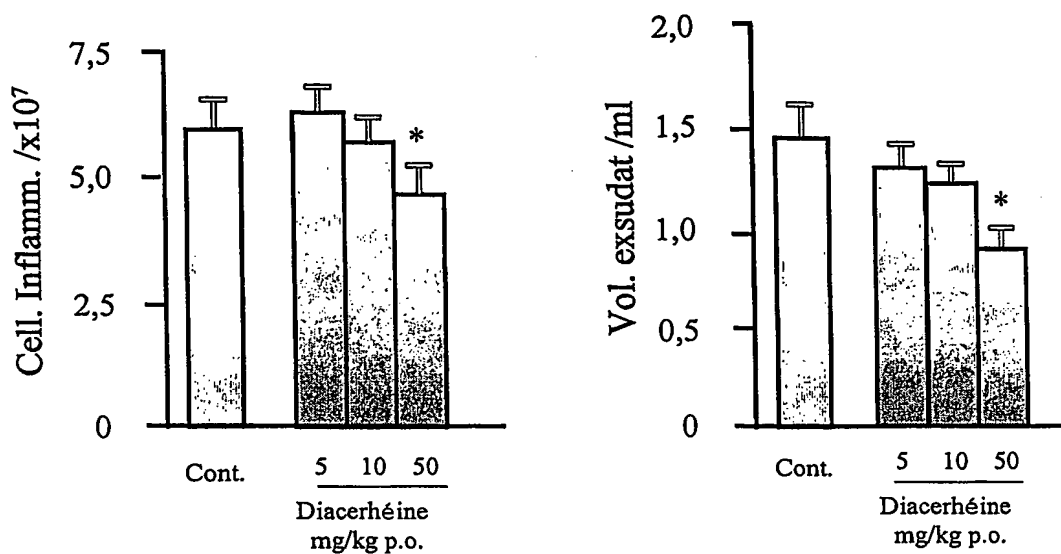


Figure 11

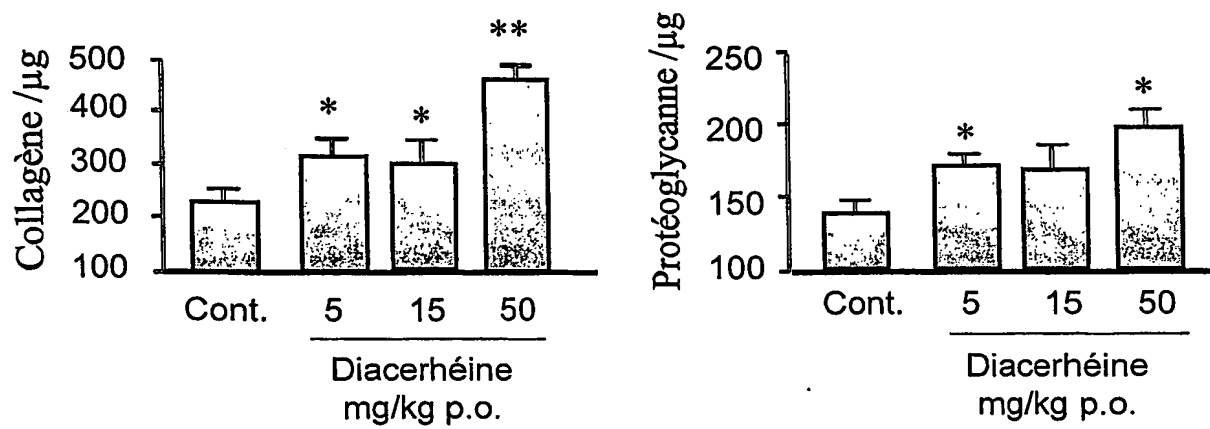


Figure 12



8 / 9

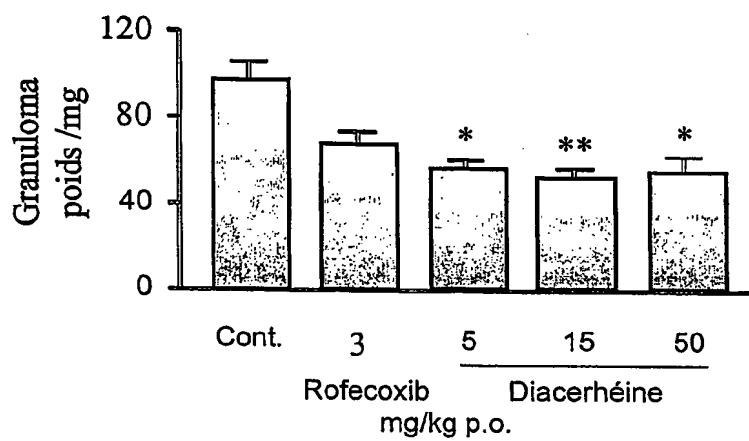


Figure 13

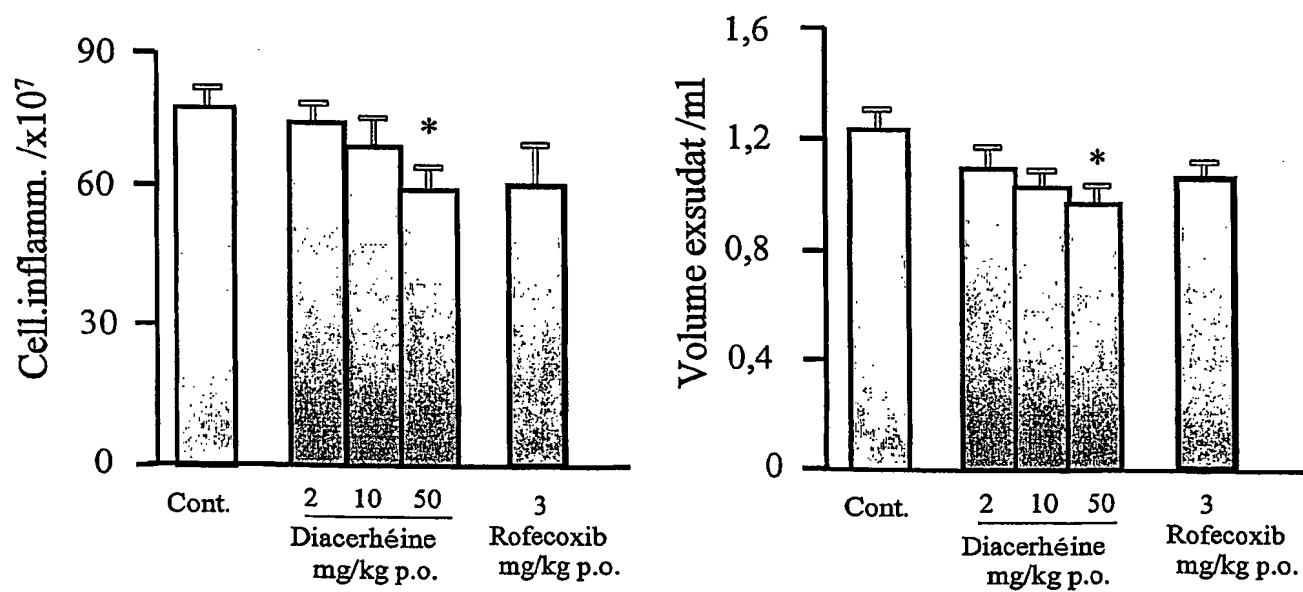


Figure 14

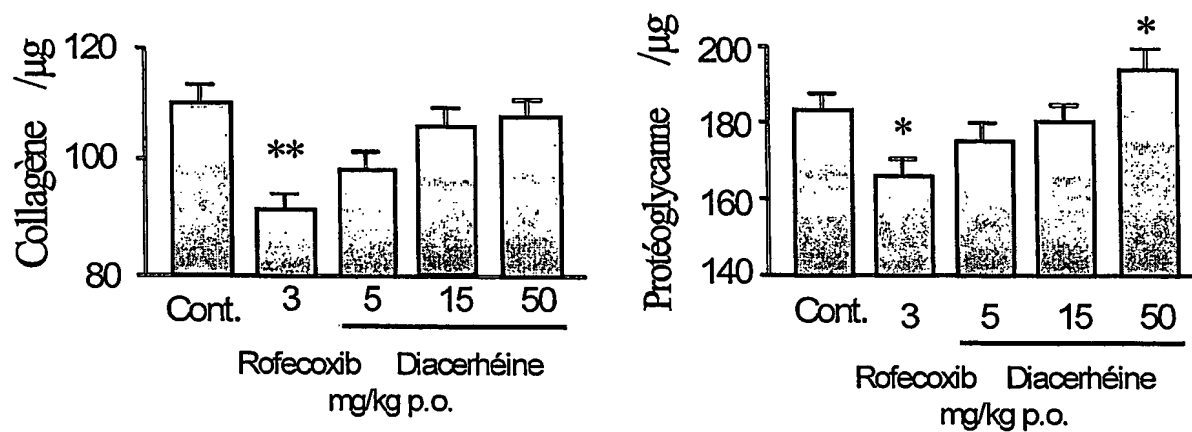


Figure 15

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/FR00/02286

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/235 A61K31/192 A61P37/06 A61P29/00 A61P39/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

PASCAL, EPO-Internal, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, CHEM ABS Data, FSTA, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WO 02 22119 A (PELLETIER JEAN PIERRE ;TACCOEN ALAIN (FR); CHARBIT SUZY (FR); NEGM) 21 March 2002 (2002-03-21) abstract page 1, paragraph 2 page 7, paragraph 2 page 12, paragraph 2 ---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 January 2004

Date of mailing of the international search report

14/01/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gac, G

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FI/93/02286

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TAMURA TADAFUMI ET AL: "Pharmacological studies of diacerein in animal models of inflammation, arthritis and bone resorption." EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY. NETHERLANDS 12 JUL 2002, vol. 448, no. 1, 12 July 2002 (2002-07-12), pages 81-87, XP001151952 ISSN: 0014-2999 the whole document ----	1-12
Y	TAMURA T ET AL: "Effect of diacerein on spontaneous polyarthritis in male New Zealand black/KN mice." OSTEOARTHRITIS AND CARTILAGE / OARS, OSTEOARTHRITIS RESEARCH SOCIETY. ENGLAND NOV 1999, vol. 7, no. 6, November 1999 (1999-11), pages 533-538, XP008017179 ISSN: 1063-4584 the whole document ----	1-3,7,8
Y	US 4 244 968 A (FRIEDMANN CHARLES A) 13 January 1981 (1981-01-13) * le document en entier, surtout colonne 4 lignes 30,41 et 68; colonne 5 lignes *9-45 ----	1-11
Y	MOORE A R ET AL: "Effects of diacerhein on granuloma induced cartilage breakdown in the mouse." OSTEOARTHRITIS AND CARTILAGE / OARS, OSTEOARTHRITIS RESEARCH SOCIETY. ENGLAND JAN 1998, vol. 6, no. 1, January 1998 (1998-01), pages 19-23, XP008017180 ISSN: 1063-4584 the whole document ----	1-11
A	DATABASE EMBASE 'Online! ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL; 1989 LU M ET AL: "Biochemical study of Chinese rhubarb. xxx. Immunosuppressive effects of anthraquinone derivatives" Database accession no. EMB-1989263837 XP002242119 abstract & JOURNAL OF CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY 1989 CHINA, vol. 20, no. 4, 1989, pages 223-226, ISSN: 1000-5048 ----- -/--	1-3,7,8, 13

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/02286

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00 36113 A (SANGSTAT MEDICAL CORP ;BUELOW ROLAND (US); IYER SUHASINI (US); WOO) 22 June 2000 (2000-06-22) abstract page 2, line 15 - line 17 page 3, line 22 - line 28	1-13
Y	--- DATABASE PASCAL 'Online! INIST, CNRS (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE), VANDOEUVRE-LES-NANCY, FR; 11 May 2001 (2001-05-11) TAMURA T ET AL: "Diacerein suppresses the increase in plasma nitric oxide in rat adjuvant-induced arthritis." retrieved from STN Database accession no. 2001-0315627 XP002242120 abstract & EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY. NETHERLANDS 11 MAY 2001, vol. 419, no. 2-3, 11 May 2001 (2001-05-11), pages 269-274, ISSN: 0014-2999	1-11
Y	--- WO 96 09038 A (WILLOUGHBY DEREK ALBERT ;WILLIS DEAN (GB); MOORE ADRIAN RICHARD (G) 28 March 1996 (1996-03-28)	1-11, 14
A	page 1, paragraph 2 page 3, paragraph 1 - paragraph 3 page 4, paragraph 2 page 6, paragraph 2 - paragraph 3 page 7 page 8, paragraph 1 - paragraph 3 page 10, paragraph 3 page 13, last paragraph example 1 claims 1-3, 8-10, 21-23	13
Y	--- EP 0 822 178 A (MEDIDOM LAB) 4 February 1998 (1998-02-04) abstract page 3, line 25 - line 29 page 10, line 23 - line 39	1-11, 14
A	--- WO 98 46633 A (SANGSTAT MEDICAL CORP) 22 October 1998 (1998-10-22) abstract page 13 page 16 -page 17	12, 13
	--- -/--	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 03/02286

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	EP 1 266 660 A (TANAKA TOSHIO) 18 December 2002 (2002-12-18) column 1, line 13 - line 15 colonne 2 lignes 10-15, 30-43 column 4, line 12 - line 20 claims 1-3	14
A	& AU 41177 01 A 24 September 2001 (2001-09-24) ---	14
P,Y	WO 02 058681 A (PELLETIER JEAN-PIERRE ;TACCOEN ALAIN (FR); CHARBIT SUZY (FR); NEGM) 1 August 2002 (2002-08-01) abstract revendications page 1, line 17 - line 33 page 2, line 5 - line 10 page 4 page 7, line 22 - line 35 page 8 -page 10, line 8 ---	1-12,14
Y	WO 00 12118 A (LEE MU EN ;YET SHAW FANG (US); HARVARD COLLEGE (US); PERRELLA MARK) 9 March 2000 (2000-03-09) abstract page 2, line 7 - line 33 page 7, line 22 - line 34 page 13, line 18 - line 27 ---	14
Y	EP 0 990 441 A (NANJING GENERAL HOSPITAL OF NA) 5 April 2000 (2000-04-05) the whole document ---	1-11,14
Y,P	DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; August 2002 (2002-08) GUO MEI-ZI ET AL: "Rhein inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats." Database accession no. NLM12147197 XP002265687 abstract & ACTA PHARMACOLOGICA SINICA. CHINA AUG 2002, vol. 23, no. 8, August 2002 (2002-08), pages 739-744, ISSN: 1671-4083 ----- -/--	1-3,14

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 93/02286

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE MEDLINE 'Online!  US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM),  BETHESDA, MD, US; 1999  SALEH T S ET AL: "Effects of  anti-inflammatory drugs upon nitrate and  myeloperoxidase levels in the mouse  pleurisy induced by carrageenan."  Database accession no. NLM10503773  XP002265688  abstract  &amp; PEPTIDES. UNITED STATES 1999,  vol. 20, no. 8, 1999, pages 949-956,  ISSN: 0196-9781</p>	1-3, 14
Y	<p>DATABASE MEDLINE 'Online!  US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM),  BETHESDA, MD, US; October 1987 (1987-10)  MIAN M ET AL: "Rhein: an anthraquinone  that modulates superoxide anion production  from human neutrophils."  Database accession no. NLM2891826  XP002265689  abstract  &amp; THE JOURNAL OF PHARMACY AND  PHARMACOLOGY. ENGLAND OCT 1987,  vol. 39, no. 10, October 1987 (1987-10),  pages 845-847,  ISSN: 0022-3573</p>	1-3, 14
Y	<p>DATABASE WPI  Week 199119  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 1991-136894  XP002265690  &amp; JP 03 074326 A (TSUMURA &amp; CO),  28 March 1991 (1991-03-28)  abstract</p>	1-11, 14
Y	<p>DATABASE WPI  Week 200036  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 2000-415275  XP002265691  &amp; JP 2000 119182 A (NIPPON CHEMIPHAR CO),  25 April 2000 (2000-04-25)  abstract</p>	1-11, 14

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/FR 92/02286

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KEYSE S M ET AL: "Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA. UNITED STATES JAN 1989, vol. 86, no. 1, January 1989 (1989-01), pages 99-103, XP001161006            ISSN: 0027-8424            cited in the application            the whole document</p>	1,14
A	<p>WO 96 30034 A (WISCONSIN ALUMNI RES FOUND)            3 October 1996 (1996-10-03)            abstract            page 24, line 20 - line 33            page 25, line 1 - line 25</p>	1-11,14
Y	<p>MALTERUD K E ET AL: "Antioxidant and radical scavenging effects of anthraquinones and anthrones." PHARMACOLOGY. SWITZERLAND OCT 1993, vol. 47 Suppl 1, October 1993 (1993-10), pages 77-85, XP008025898            ISSN: 0031-7012            the whole document</p>	1-11,14
A	<p>DATABASE WPI            Week 199828            Derwent Publications Ltd., London, GB;            AN 1998-316680            XP002265692            &amp; JP 10 114650 A (POLA CHEM. IND. INC.),            6 May 1998 (1998-05-06)            abstract</p>	1-11,14



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## Continuation of Box I.2

The present claims 1-12 and 14 relate to therapeutic uses defined by reference to a desirable property, namely "an increase in the HO-1 level". The claims cover all of the diseases potentially covered by this pharmacological feature, yet the application provides support (PCT Article 6) and/or disclosure (PCT Article 5) for only a very limited number of such Diseases. Furthermore, it should be noted that a novel pharmacological mode of action cannot replace a novel medical use for known compounds, because it does not in itself open a new therapeutic window and leads to a lack of clarity so great that a person skilled in the art could not reasonably determine the extent of the potential specific uses.

In the present case, the claims lack support and clarity and the application lacks disclosure to such an extent that it is impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Therefore, the search was directed to the parts of the claims of which the subject matter appears to be clear, supported and sufficiently disclosed, that is the parts relating to graft or transplant rejection and joint diseases (whether inflammatory or non-inflammatory), while taking into account the inventive concept of the application.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

on patent family members

International Application No

PCT/FI/83/02286

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0222119	A	21-03-2002	US 6610750 B1 AU 9003301 A CA 2422093 A1 EP 1317263 A1 WO 0222119 A1	26-08-2003 26-03-2002 21-03-2002 11-06-2003 21-03-2002
US 4244968	A	13-01-1981	FR 2508798 A1 IT 1098332 B ZA 7601627 A BE 875945 A1 DE 2711493 A1 DE 2760258 C2 GB 1578452 A JP 52128229 A US 4346103 A	07-01-1983 07-09-1985 25-01-1978 16-08-1979 06-10-1977 21-12-1989 05-11-1980 27-10-1977 24-08-1982
WO 0036113	A	22-06-2000	AU 2366900 A CA 2355066 A1 EP 1141319 A2 JP 2003500335 T WO 0036113 A2	03-07-2000 22-06-2000 10-10-2001 07-01-2003 22-06-2000
WO 9609038	A	28-03-1996	CA 2132690 A1 AT 233551 T AU 3528195 A AU 5495599 A CN 1166785 A DE 69529831 D1 DE 69529831 T2 DK 782441 T3 EP 0782441 A1 WO 9609038 A2 JP 10506388 T NZ 292963 A PT 782441 T US 6066333 A	23-03-1996 15-03-2003 09-04-1996 06-01-2000 03-12-1997 10-04-2003 24-12-2003 30-06-2003 09-07-1997 28-03-1996 23-06-1998 29-06-2001 31-07-2003 23-05-2000
EP 0822178	A	04-02-1998	IT MI961655 A1 AT 234271 T DE 69719627 D1 DE 69719627 T2 DK 822178 T3 EP 0822178 A1 PT 822178 T US 5864048 A	02-02-1998 15-03-2003 17-04-2003 13-11-2003 14-07-2003 04-02-1998 31-07-2003 26-01-1999
WO 9846633	A	22-10-1998	AU 761717 B2 AU 6897898 A BR 9808529 A CN 1259958 T EP 0973799 A1 JP 2001526641 T NO 994898 A NZ 500287 A PL 336302 A1 TR 9902786 T2 WO 9846633 A1 NZ 516045 A	05-06-2003 11-11-1998 24-10-2000 12-07-2000 26-01-2000 18-12-2001 24-11-1999 25-10-2002 19-06-2000 21-06-2000 22-10-1998 28-11-2003

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

patent family members

International Publication No

PCT/FR 00/02286

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1266660	A	18-12-2002	AU 4117701 A EP 1266660 A1 WO 0168094 A1 US 2003032655 A1	24-09-2001 18-12-2002 20-09-2001 13-02-2003
WO 02058681	A	01-08-2002	US 2002128317 A1 CA 2434052 A1 EP 1363613 A2 WO 02058681 A2	12-09-2002 01-08-2002 26-11-2003 01-08-2002
WO 0012118	A	09-03-2000	AU 6022999 A WO 0012118 A2	21-03-2000 09-03-2000
EP 0990441	A	05-04-2000	CN 1178669 A DE 990441 T1 EP 0990441 A1 US 6197818 B1 WO 9916432 A1	15-04-1998 25-01-2001 05-04-2000 06-03-2001 08-04-1999
JP 3074326	A	28-03-1991	NONE	
JP 2000119182	A	25-04-2000	NONE	
WO 9630034	A	03-10-1996	US 5652265 A AU 5379296 A WO 9630034 A1	29-07-1997 16-10-1996 03-10-1996
JP 10114650	A	06-05-1998	NONE	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR 03/02286

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K31/235 A61K31/192 A61P37/06 A61P29/00 A61P39/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

PASCAL, EPO-Internal, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, CHEM ABS Data, FSTA, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>WO 02 22119 A (PELLETIER JEAN PIERRE ;TACCOEN ALAIN (FR); CHARBIT SUZY (FR); NEGM) 21 mars 2002 (2002-03-21) abrégé page 1, alinéa 2 page 7, alinéa 2 page 12, alinéa 2</p> <p style="text-align: center;">--- -/-</p>	1-12

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

6 janvier 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

14/01/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Gac, G

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR 83/02286

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>TAMURA TADAFUMI ET AL: "Pharmacological studies of diacerein in animal models of inflammation, arthritis and bone resorption." EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY. NETHERLANDS 12 JUL 2002, vol. 448, no. 1, 12 juillet 2002 (2002-07-12), pages 81-87, XP001151952 ISSN: 0014-2999 le document en entier</p>	1-12
Y	<p>TAMURA T ET AL: "Effect of diacerein on spontaneous polyarthritis in male New Zealand black/KN mice." OSTEOARTHRITIS AND CARTILAGE / OARS, OSTEOARTHRITIS RESEARCH SOCIETY. ENGLAND NOV 1999, vol. 7, no. 6, novembre 1999 (1999-11), pages 533-538, XP008017179 ISSN: 1063-4584 le document en entier</p>	1-3,7,8
Y	<p>US 4 244 968 A (FRIEDMANN CHARLES A) 13 janvier 1981 (1981-01-13) * le document en entier, surtout colonne 4 lignes 30,41 et 68; colonne 5 lignes *9-45</p>	1-11
Y	<p>MOORE A R ET AL: "Effects of diacerhein on granuloma induced cartilage breakdown in the mouse." OSTEOARTHRITIS AND CARTILAGE / OARS, OSTEOARTHRITIS RESEARCH SOCIETY. ENGLAND JAN 1998, vol. 6, no. 1, janvier 1998 (1998-01), pages 19-23, XP008017180 ISSN: 1063-4584 le document en entier</p>	1-11
A	<p>DATABASE EMBASE 'en ligne! ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL; 1989 LU M ET AL: "Biochemical study of Chinese rhubarb. xxx. Immunosuppressive effects of anthraquinone derivatives" Database accession no. EMB-1989263837 XP002242119 abrégé &amp; JOURNAL OF CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY 1989 CHINA, vol. 20, no. 4, 1989, pages 223-226, ISSN: 1000-5048</p>	1-3,7,8, 13

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR/02286

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 00 36113 A (SANGSTAT MEDICAL CORP ;BUELOW ROLAND (US); IYER SUHASINI (US); WOO) 22 juin 2000 (2000-06-22) abrégé page 2, ligne 15 - ligne 17 page 3, ligne 22 - ligne 28 ---	1-13
Y	DATABASE PASCAL 'en ligne! INIST, CNRS (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE), VANDOEUVRE-LES-NANCY, FR; 11 mai 2001 (2001-05-11) TAMURA T ET AL: "Diacerein suppresses the increase in plasma nitric oxide in rat adjuvant-induced arthritis." retrieved from STN Database accession no. 2001-0315627 XP002242120 abrégé & EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY. NETHERLANDS 11 MAY 2001, vol. 419, no. 2-3, 11 mai 2001 (2001-05-11), pages 269-274, ISSN: 0014-2999 ---	1-11
Y	WO 96 09038 A (WILLOUGHBY DEREK ALBERT ;WILLIS DEAN (GB); MOORE ADRIAN RICHARD (G) 28 mars 1996 (1996-03-28) ---	1-11,14
A	page 1, alinéa 2 page 3, alinéa 1 - alinéa 3 page 4, alinéa 2 page 6, alinéa 2 - alinéa 3 page 7 page 8, alinéa 1 - alinéa 3 page 10, alinéa 3 page 13, dernier alinéa exemple 1 revendications 1-3,8-10,21-23 ---	13
Y	EP 0 822 178 A (MEDIDOM LAB) 4 février 1998 (1998-02-04) abrégé page 3, ligne 25 - ligne 29 page 10, ligne 23 - ligne 39 ---	1-11,14
A	WO 98 46633 A (SANGSTAT MEDICAL CORP) 22 octobre 1998 (1998-10-22) abrégé page 13 page 16 -page 17 ---	12,13
	-/--	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR 03/02286

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A,P	EP 1 266 660 A (TANAKA TOSHIO) 18 décembre 2002 (2002-12-18) colonne 1, ligne 13 - ligne 15 colonne 2 lignes 10-15, 30-43 colonne 4, ligne 12 - ligne 20 revendications 1-3 --- & AU 41177 01 A 24 septembre 2001 (2001-09-24)	14
A		14
P,Y	WO 02 058681 A (PELLETIER JEAN-PIERRE ;TACCOEN ALAIN (FR); CHARBIT SUZY (FR); NEGM) 1 août 2002 (2002-08-01) abrégé revendications page 1, ligne 17 - ligne 33 page 2, ligne 5 - ligne 10 page 4 page 7, ligne 22 - ligne 35 page 8 -page 10, ligne 8 --- WO 00 12118 A (LEE MU EN ;YET SHAW FANG (US); HARVARD COLLEGE (US); PERRELLA MARK) 9 mars 2000 (2000-03-09) abrégé page 2, ligne 7 - ligne 33 page 7, ligne 22 - ligne 34 page 13, ligne 18 - ligne 27 --- EP 0 990 441 A (NANJING GENERAL HOSPITAL OF NA) 5 avril 2000 (2000-04-05) le document en entier --- DATABASE MEDLINE 'en ligne! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; août 2002 (2002-08) GUO MEI-ZI ET AL: "Rhein inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats." Database accession no. NLM12147197 XP002265687 abrégé & ACTA PHARMACOLOGICA SINICA. CHINA AUG 2002, vol. 23, no. 8, août 2002 (2002-08), pages 739-744, ISSN: 1671-4083 --- -/--	1-12,14
Y		14
Y		1-11,14
Y,P		1-3,14



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/1993/02286

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>DATABASE MEDLINE 'en ligne!  US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM),  BETHESDA, MD, US; 1999  SALEH T S ET AL: "Effects of  anti-inflammatory drugs upon nitrate and  myeloperoxidase levels in the mouse  pleurisy induced by carrageenan."  Database accession no. NLM10503773  XP002265688  abrégé  &amp; PEPTIDES. UNITED STATES 1999,  vol. 20, no. 8, 1999, pages 949-956,  ISSN: 0196-9781</p> <p>---</p>	1-3,14
Y	<p>DATABASE MEDLINE 'en ligne!  US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM),  BETHESDA, MD, US; octobre 1987 (1987-10)  MIAN M ET AL: "Rhein: an anthraquinone  that modulates superoxide anion production  from human neutrophils."  Database accession no. NLM2891826  XP002265689  abrégé  &amp; THE JOURNAL OF PHARMACY AND  PHARMACOLOGY. ENGLAND OCT 1987,  vol. 39, no. 10, octobre 1987 (1987-10),  pages 845-847,  ISSN: 0022-3573</p> <p>---</p>	1-3,14
Y	<p>DATABASE WPI  Week 199119  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 1991-136894  XP002265690  &amp; JP 03 074326 A (TSUMURA &amp; CO),  28 mars 1991 (1991-03-28)  abrégé</p> <p>---</p>	1-11,14
Y	<p>DATABASE WPI  Week 200036  Derwent Publications Ltd., London, GB;  AN 2000-415275  XP002265691  &amp; JP 2000 119182 A (NIPPON CHEMIPHAR CO),  25 avril 2000 (2000-04-25)  abrégé</p> <p>---</p>	1-11,14

-/--

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 93/02286

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>KEYSE S M ET AL: "Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA. UNITED STATES JAN 1989, vol. 86, no. 1, janvier 1989 (1989-01), pages 99-103, XP001161006 ISSN: 0027-8424 cité dans la demande le document en entier</p>	1,14
A	<p>WO 96 30034 A (WISCONSIN ALUMNI RES FOUND) 3 octobre 1996 (1996-10-03) abrégé page 24, ligne 20 - ligne 33 page 25, ligne 1 - ligne 25</p>	1-11,14
Y	<p>MALTERUD K E ET AL: "Antioxidant and radical scavenging effects of anthraquinones and anthrones." PHARMACOLOGY. SWITZERLAND OCT 1993, vol. 47 Suppl 1, octobre 1993 (1993-10), pages 77-85, XP008025898 ISSN: 0031-7012 le document en entier</p>	1-11,14
A	<p>DATABASE WPI Week 199828 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1998-316680 XP002265692 &amp; JP 10 114650 A (POLA CHEM. IND. INC.), 6 mai 1998 (1998-05-06) abrégé</p>	1-11,14

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Demande internationale n°  
PCT/FR 03/02286

**Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> – se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☒ Les revendications n<sup>os</sup> – se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:  
voir feuille supplémentaire SUITE DES RENSEIGNEMENTS PCT/ISA/210
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prétaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

## SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

## Suite du cadre I.2

Les revendications 1-12,14 présentes ont trait à des utilisations thérapeutiques définies en faisant référence à une caractéristique souhaitable, à savoir "l'élévation du taux de HO-1".

Les revendications couvrent toutes les affections potentiellement couvertes par cette caractéristique pharmacologique alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT que pour un nombre très limité de tels maladies. De plus, il convient de noter qu' un nouveau mécanisme d'action pharmacologique ne peut pas se substituer à une nouvelle utilisation médicale pour des composés connus, car il n'ouvre pas en lui-même une nouvelle fenêtre thérapeutique et conduit à un manque de clarté tel que a personne de l'art ne peut raisonnablement pas connaître l'étendue des utilisations spécifiques potentielles.

Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et de clarté et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible.

En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les parties concernant les rejets de greffes/transplants, les maladies articulaires (inflammatoires ou non), tout en tenant compte du concept inventif de la demande.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR03/02286

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0222119	A	21-03-2002	US 6610750 B1 AU 9003301 A CA 2422093 A1 EP 1317263 A1 WO 0222119 A1	26-08-2003 26-03-2002 21-03-2002 11-06-2003 21-03-2002
US 4244968	A	13-01-1981	FR 2508798 A1 IT 1098332 B ZA 7601627 A BE 875945 A1 DE 2711493 A1 DE 2760258 C2 GB 1578452 A JP 52128229 A US 4346103 A	07-01-1983 07-09-1985 25-01-1978 16-08-1979 06-10-1977 21-12-1989 05-11-1980 27-10-1977 24-08-1982
WO 0036113	A	22-06-2000	AU 2366900 A CA 2355066 A1 EP 1141319 A2 JP 2003500335 T WO 0036113 A2	03-07-2000 22-06-2000 10-10-2001 07-01-2003 22-06-2000
WO 9609038	A	28-03-1996	CA 2132690 A1 AT 233551 T AU 3528195 A AU 5495599 A CN 1166785 A DE 69529831 D1 DE 69529831 T2 DK 782441 T3 EP 0782441 A1 WO 9609038 A2 JP 10506388 T NZ 292963 A PT 782441 T US 6066333 A	23-03-1996 15-03-2003 09-04-1996 06-01-2000 03-12-1997 10-04-2003 24-12-2003 30-06-2003 09-07-1997 28-03-1996 23-06-1998 29-06-2001 31-07-2003 23-05-2000
EP 0822178	A	04-02-1998	IT MI961655 A1 AT 234271 T DE 69719627 D1 DE 69719627 T2 DK 822178 T3 EP 0822178 A1 PT 822178 T US 5864048 A	02-02-1998 15-03-2003 17-04-2003 13-11-2003 14-07-2003 04-02-1998 31-07-2003 26-01-1999
WO 9846633	A	22-10-1998	AU 761717 B2 AU 6897898 A BR 9808529 A CN 1259958 T EP 0973799 A1 JP 2001526641 T NO 994898 A NZ 500287 A PL 336302 A1 TR 9902786 T2 WO 9846633 A1 NZ 516045 A	05-06-2003 11-11-1998 24-10-2000 12-07-2000 26-01-2000 18-12-2001 24-11-1999 25-10-2002 19-06-2000 21-06-2000 22-10-1998 28-11-2003

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs

des familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 03/02286

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1266660	A	18-12-2002	AU 4117701 A	24-09-2001
			EP 1266660 A1	18-12-2002
			WO 0168094 A1	20-09-2001
			US 2003032655 A1	13-02-2003
WO 02058681	A	01-08-2002	US 2002128317 A1	12-09-2002
			CA 2434052 A1	01-08-2002
			EP 1363613 A2	26-11-2003
			WO 02058681 A2	01-08-2002
WO 0012118	A	09-03-2000	AU 6022999 A	21-03-2000
			WO 0012118 A2	09-03-2000
EP 0990441	A	05-04-2000	CN 1178669 A	15-04-1998
			DE 990441 T1	25-01-2001
			EP 0990441 A1	05-04-2000
			US 6197818 B1	06-03-2001
			WO 9916432 A1	08-04-1999
JP 3074326	A	28-03-1991	AUCUN	
JP 2000119182	A	25-04-2000	AUCUN	
WO 9630034	A	03-10-1996	US 5652265 A	29-07-1997
			AU 5379296 A	16-10-1996
			WO 9630034 A1	03-10-1996
JP 10114650	A	06-05-1998	AUCUN	